



УДК 576.3

ОСНОВНЫЕ РЕДОКС-ПАРЫ КЛЕТКИ

© 2015 г. Д. С. Билан*, **, #, А. Г. Шохина*, С. А. Лукьянов*, **, В. В. Белоусов*, **

*ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

**ГБОУВПО «Нижегородская государственная медицинская академия»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Поступила в редакцию 08.09.2014 г. Принята к печати 29.01.2015 г.

Большая часть живых клеток поддерживает непрерывный поток электронов, обеспечивая себя энергией. Многие соединения представлены в клетке одновременно в окисленном и восстановленном состоянии, формируя таким образом активные редокс-пары. Некоторые из редокс-пар, например, NAD^+/NADH , $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$, окисленный/восстановленный глутатион (GSSG/GSH) – универсальны, поскольку они одновременно участвуют в регуляции многих клеточных реакций. Соотношения окисленной и восстановленной форм этих соединений являются важными клеточными редокс-показателями. Современные подходы исследований позволяют устанавливать новые функции основных редокс-пар в сложной организации клеточных процессов. В обзоре представлена информация об основных редокс-парах клетки, рассмотрено их участие в различных биологических процессах.

Ключевые слова: редокс-пары, $\text{GSSG}/2\text{GSH}$, $\text{NAD(P)}^+/\text{NAD(P)H}$, тиоредоксин, флавины.

DOI: 10.7868/S0132342315040041

ВВЕДЕНИЕ

Многие окислительно-восстановительные процессы клетки сопряжены в единый, тонко регулируемый сложный механизм. Причем чаще всего отдельные компоненты этого механизма, будь то

реакции или отдельные соединения, не взаимодействуют друг с другом напрямую. Клеточное дыхание служит этому наглядным примером. Благодаря одним окислительно-восстановительным реакциям клетка запасает энергию и одновременно, благодаря другим, высвобождает ее. Связь между разными процессами осуществляют особые соединения, главная функция которых заключается в переносе восстановительных эквивалентов от одной реакции к другой. В клеточном дыхании одним из главных связующих звеньев является молекула никотинамидадениндинуклеотида (NAD). В клетке NAD одновременно пребывает в окисленном (NAD^+) и восстановленном (NADH) состояниях, выступая, соответственно, акцептором и донором восстановительных эквивалентов в совершенно разных клеточных реакциях. NAD^+ и NADH являются активной редокс-парой, от значения соотношения NAD^+/NADH зависят многие важнейшие процессы клетки. $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ – еще один пример редокс-пары, функции которой иногда перекрываются с функциями NAD^+/NADH . NADPH служит источником электронов для многих биохимических реакций. Главным тиол-дисульфидным редокс-буфером клетки является глутатион, также образующий активную редокс-пару $\text{GSSG}/2\text{GSH}$. В отличие от многих других клеточных метаболитов, которые также присутствуют в клетке одновременно в окисленном и восстановленном состояниях, вышеперечисленные редокс-

Сокращения: ADP – аденозиндифосфат; AIF – апоптозиндуцирующий фактор; AP-1 – белок-активатор 1; ARTs – (ADP-Rib)трансферазы; ATP – аденозинтрифосфат; сADP-рибоза – циклическая ADP-рибоза; Ego1 – оксидоредуктаза 1 эндоплазматического ретикулума; FAD/FADH₂ – флавинадениндинуклеотид окисленный/восстановленный; FMN/FMNH₂ – флавинмононуклеотид окисленный/восстановленный; GPx – глутатионпероксидаза; GR – глутатионредуктаза; Gtx – глутаредоксин; GSSG/2GSH – глутатион окисленный (глутатиондисульфид)/восстановленный; IP₃R – рецептор инозитол-1,4,5-трисфосфата; MPT – неспецифическая проницаемость митохондрий; NAADP – адениндинуклеотидфосфат никотиновой кислоты; NAD^+/NADH – β -никотинамидадениндинуклеотид окисленный/восстановленный; NADK – NAD^+ -киназа; $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ – β -никотинамидадениндинуклеотидфосфат окисленный/восстановленный; NF- κ B – ядерный транскрипционный фактор κ , связывающийся с последовательностью энхансера гена каппа легкой цепи иммуноглобулина в активированных В-клетках; NMNAT – никотинамидмононуклеотид-аденилилтрансфераза; NOX – NADPH-оксидаза; P53 – белок 53; PARG – poly(ADP-Rib)-гликогидролаза; PARP – poly(ADP-Rib)-полимераза; PDI – протеин-дисульфидизомераза; gYFP – редокс-чувствительный желтый флуоресцентный белок; RyR – рианодинный рецептор; Sir – сиртуин; TGR – тиоредоксинглутатионредуктаза; TxR – тиоредоксинредуктаза; TxSS/Tx(SH)₂ – тиоредоксин окисленный/восстановленный; АФК – активные формы кислорода.

Автор для связи (тел: +7 (499) 724-84-66; эл. почта: d.s.bilan@gmail.com).

пары участвуют в большом количестве разных реакций и поэтому универсальны. Следует отметить, что большинство биологических окислительно-восстановительных реакций представляются собой двухэлектронные процессы, что позволяет избежать образования активных промежуточных продуктов, в том числе свободных радикалов.

GSSG/2GSH

Глутатион является ключевой молекулой окислительно-восстановительных реакций, связанных с тиол-дисульфидным обменом. Соединение представляет собой трипептид *L*- γ -глутамил-*L*-цистенилглицин (таблица), служащий своеобразным “буфером” для поддержания редокс-статуса клетки [1]. В клетке глутатион находится преимущественно в восстановленном состоянии [2]. Таким образом, восстановленный глутатион служит субстратом для ферментов тиол-дисульфидного обмена, которые поддерживают тиолы клетки в восстановленном состоянии.

Синтез глутатиона в клетке происходит последовательно в две стадии из соответствующих аминокислот благодаря двум ферментам: γ -глутамилцистеинсинтетазе и глутатионсинтетазе. На первом этапе γ -карбоксильная группа глутамата реагирует с аминогруппой цистеина и формирует γ -пептидную связь, которая не подвержена гидролизу внутриклеточными пептидазами. Второй фермент завершает синтез глутатиона, добавляя остаток глицина [3, 4].

Концентрация восстановленного глутатиона (GSH) в клетках может составлять от 0.1 до 15 мМ в зависимости от типа клеток или клеточного компартмента, концентрация же окисленной формы (GSSG) обычно на несколько порядков ниже [5]. Благодаря своей высокой концентрации восстановленный глутатион поддерживает в клетке практически все тиоловые группы в восстановленном состоянии. Обратимое формирование внутренних и межмолекулярных дисульфидов — один из важнейших механизмов регуляции многих белков. Именно глутатион служит в роли восстанавливающего агента клеточных дисульфидов [5].

S-Глутатионилирование является часто встречаемой посттрансляционной модификацией в белках. В норме регуляция функций многих клеточных белков осуществляется благодаря обратимому глутатионилированию [6]. Некоторые из клеточных белков в физиологических условиях постоянно находятся в глутатионилированной форме. К таким белкам относятся, например, β -актин [7] и митохондриальный комплекс II [8]. Степень глутатионилирования многих белков значительно возрастает при патологических состояниях, сопровождающихся масштабным окислительным стрессом [9]. Данная модификация может защищать тиоловые группы цистеиновых белков от необратимо-

го окисления. Поэтому нехватка глутатиона способствует развитию окислительного стресса, лежащего в основе многих заболеваний [4]. Глутатионилирование белков также отмечено при генерации АФК, которые участвуют в клеточном сигналинге при действии, например, факторов роста и ангиотензина II [7, 10].

Реакции тиол-дисульфидного обмена *in vivo* катализируются специализированными белками глутаредоксинов (Grx) [6]. Grx относятся к суперсемейству тиоредоксинов, они найдены практически во всех таксономических группах и демонстрируют высокую степень гомологии [11]. Восстановление клеточных дисульфидов благодаря Grx может протекать по монотиольному или дитиольному механизмам, в зависимости от того, участвует в активном центре белка один или два аминокислотных остатка цистеина. В случае дитиольного механизма один остаток цистеина, расположенный в активном центре Grx ближе к *N*-концу, образует смешанный дисульфид с субстратом. Затем второй остаток цистеина депротонируется и формирует дисульфид с первым остатком. В результате Grx переходит в окисленную форму с одновременным восстановлением субстрата. В качестве субстратов Grx могут выступать как дисульфиды белков, так и низкомолекулярные соединения [11]. При монотиольном механизме в реакции участвует только один остаток цистеина, расположенный ближе к *N*-концу Grx. По такому механизму Grx восстанавливает преимущественно смешанные дисульфиды белков или глутатионилированные белки [11].

Существует несколько изоформ Grx. В клетках млекопитающих выделяют цитоплазматическую изоформу Grx1 и две митохондриальные — Grx2 и Grx5 [11–13]. Окисленный Grx восстанавливается без участия каких-либо ферментов, благодаря пулу GSH. В свою очередь, для восстановления самого глутатиона и поддержания общего клеточного соотношения GSSG/2GSH на требуемом уровне необходим фермент глутатионредуктаза (GR). GR является FAD-содержащим ферментом, использующим восстановительные эквиваленты NADPH для восстановления GSSG [14–16]. На рис. 1 представлена схема работы глутаредоксинзависимой системы.

Даже незначительные изменения клеточного тиол-дисульфидного равновесия могут иметь серьезные последствия для клетки. Соотношение GSSG/2GSH отражает общий редокс-статус клетки. Клеточное соотношение GSSG/2GSH в среднем составляет примерно 1/100 [17, 18] и может изменяться при окислительном стрессе и апоптозе [18, 19]. Примечательно, что значение этого параметра в разных клеточных компартментах отличается. Например, в цитоплазме культивируемых человеческих клеток редокс-потенциал глутатиона

Основные клеточные редокс-пары

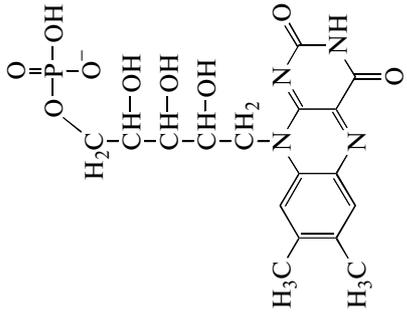
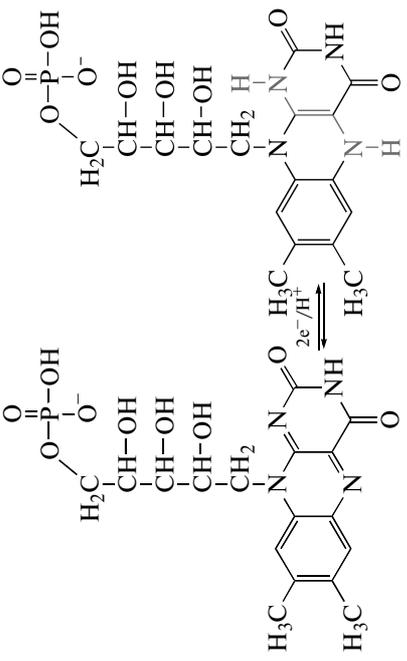
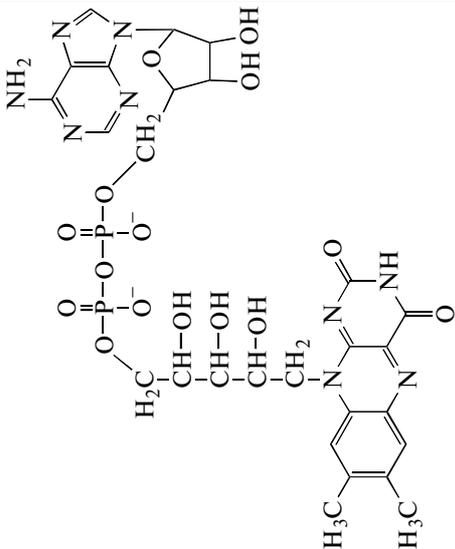
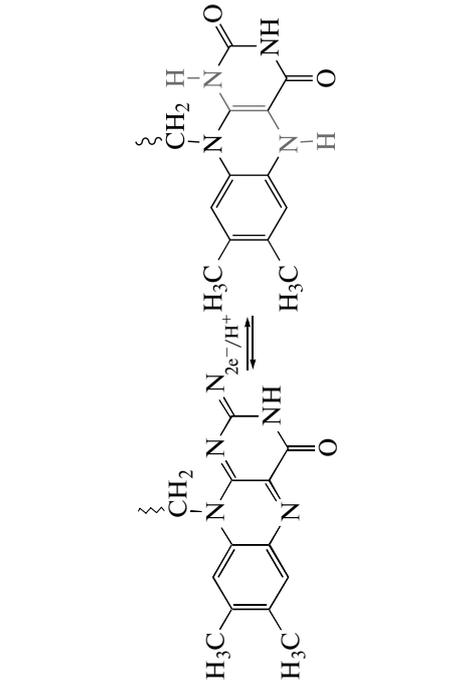
Редокс-пара	Структура	Реакция	Характеристики
FMN/FMNH ₂			<p>Стандартный редокс потенциал: -219 мВ (для свободного кофермента) [195, 196]. Концентрация: 6.6 нмоль/л в плазме крови человека и 44 нмоль/л в эритроцитах [197]</p>
FAD/FADH ₂			<p>Стандартный редокс потенциал: -219 мВ (для свободного кофермента) [195, 196]. Концентрация: 74 нмоль/л в плазме крови человека и 469 нмоль/л в эритроцитах [197]</p>

Таблица. Продолжение

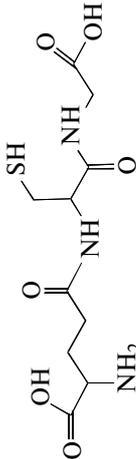
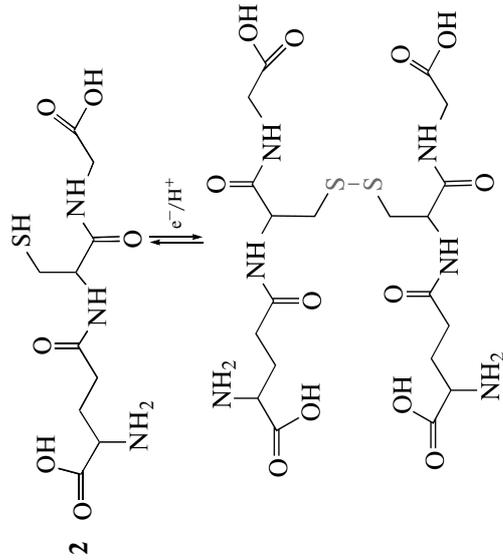
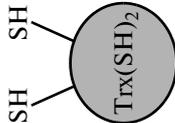
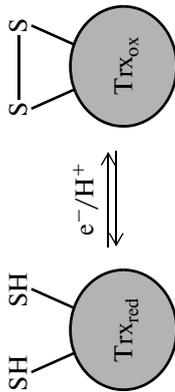
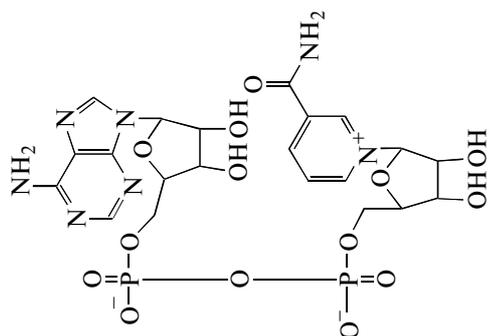
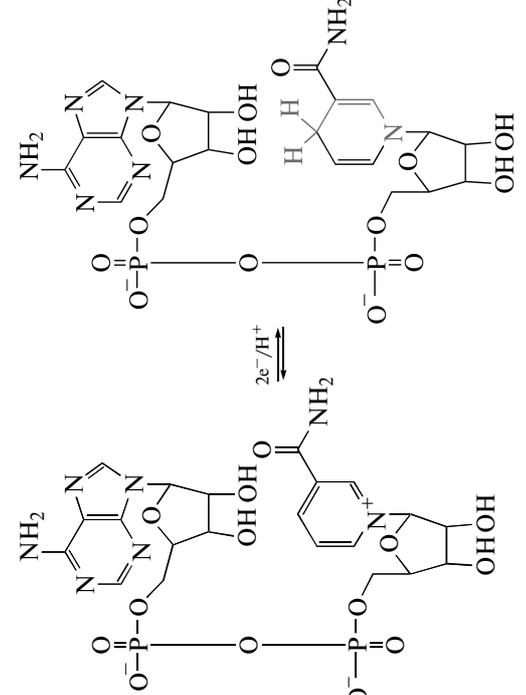
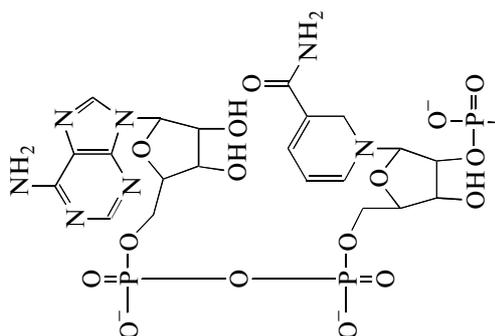
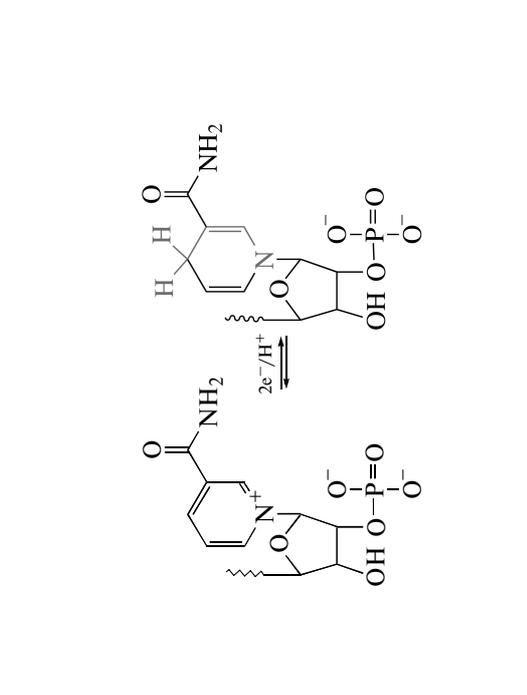
Редокс-пара	Структура	Реакция	Характеристики
GSSG/2GSN			<p>Стандартный редокс потенциал: -240 мВ [198]; редокс потенциал в компартментах: $-280 \dots -320$ в цитоплазме [20, 21], $-300 \dots -330$ в митохондриях [34], $-170 \dots -190$ в люмене ЭПР [38]. Концентрация в клетке до 15 мМ [5]</p>
Trx(SH) ₂ /TrSS			<p>Стандартный редокс потенциал: -230 мВ [199]; редокс потенциал в компартментах: $-280 \dots -300$ в цитоплазме и ядре [34], $-340 \dots -360$ в митохондриях [34]. Концентрация в клетках млекопитающих до 10 мкМ [53]</p>

Таблица. Окончание

Редокс-пара	Структура	Реакция	Характеристики
<p>NAD⁺/NADH</p>			<p>Стандартный редокс потенциал: -316 мВ [200]; редокс потенциал в цитоплазме клеток печени -250 мВ [188]. Общая концентрация в большинстве тканей 10⁻⁵ М [90]</p>
<p>NADP⁺/NADPH</p>			<p>Стандартный редокс потенциал: -315 мВ [200]; редокс потенциал в цитоплазме клеток печени -390 мВ [37, 186, 187]. Общая концентрация в большинстве тканей 10⁻⁶ М [90]</p>

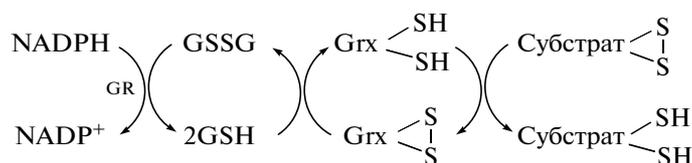


Рис. 1. Принцип работы глутаредоксинзависимой системы. Глутаредоксин (Grx) восстанавливает дисульфидную связь субстрата, окисляясь при этом. Восстановленный глутатион (GSH) неферментативным путем восстанавливает Grx. NADPH-зависимая глутатионредуктаза (GR) поддерживает восстановленный пул глутатиона.

находится в диапазоне $-280 \dots -320$ мВ. То есть, соотношение GSSG/2GSH в цитоплазме подобных клеток составляет около 1/3300 [20, 21]. Клеточное ядро имеет свой независимый пул глутатиона, который более восстановлен по сравнению с пулом в цитоплазме [17], что необходимо для регуляции белков ядерного матрикса и защиты ДНК от окислительного повреждения [22–28]. Восстановленный пул глутатиона характерен и для матрикса митохондрий. Независимый пул глутатиона в митохондриях защищает белки и липиды матрикса от окислительного повреждения. В некоторых клетках митохондриальный пул глутатиона составляет 10–15% от общего, например, в клетках печени [29]. В клетках почечных канальцев это значение может достигать 15–30% [30].

Глутатион синтезируется в цитоплазме и затем транспортируется в митохондрии [31–33]. На выделенных из печени мыши митохондриях было показано, что редокс-потенциал в них может достигать значений $-330 \dots -300$ мВ [34]. С помощью генетически кодируемого флуоресцентного биосенсора gYFP [21, 35] в митохондриальном матриксе *Saccharomyces cerevisiae* был определен редокс-потенциал глутатиона, который составил -296 мВ, в то время как его значение в цитоплазме, определенное тем же способом, равнялось -286 мВ [36]. Редокс-потенциал глутатиона зависит не только от соотношения GSSG/2GSH, но и от его абсолютной концентрации [37]. Поэтому в изолированных компартментах редокс-состояние пула глутатиона зависит и от его транспорта в эти компартменты [17]. Наиболее окисленным компартментом клетки является люмен эндоплазматического ретикула. Редокс-потенциал глутатиона в этом компартменте находится в диапазоне $-170 \dots -190$ мВ, что соответствует соотношению GSSG/2GSH приблизительно 1/1–1/3 [38].

Во многих белках, в том числе мембранных и секретрируемых, содержатся дисульфидные связи, которые участвуют в стабилизации их структуры и регуляции функций. В эндоплазматическом ретикуле созданы оптимальные условия для образования дисульфидных связей белков [39]. Ключевую роль в этом процессе играют оксидаза Ero-1 и протеин-дисульфидизомераза (PDI). Ero-1 окисляется O_2 , после чего способствует образова-

нию дисульфида в молекуле PDI [40–42]. Окисление PDI также может быть опосредовано GSSG [42]. Окисленные PDI восстанавливаются, формируя дисульфидные связи в других белках, после чего правильно свернутые белки направляются в аппарат Гольджи. Кроме того, PDI может участвовать и в восстановлении дисульфидных связей, например, в неправильно свернувшихся белках [42].

Как показывают результаты недавних исследований, общие пулы глутатиона разных клеточных компартментов зачастую адаптируются к физиологическим изменениям независимым друг от друга образом [43–45].

Кроме поддержания общего редокс-статуса всех клеточных тиолов глутатион служит субстратом глутатионпероксидазы (GPx) и, таким образом, участвует в регуляции работы антиоксидантных систем клетки. GPx осуществляют реакцию восстановления H_2O_2 . Реакция протекает в несколько этапов и сопряжена с окислением GSH. На первом этапе группа $-SeH$ остатка селеноцистеина, содержащегося в активном центре белка, окисляется H_2O_2 до $-SeOH$ (уравнение 1). Далее $-SeOH$ взаимодействует с GSH (уравнение 2). Взаимодействие со второй молекулой GSH вновь возвращает фермент в активное состояние для последующего взаимодействия с H_2O_2 (уравнение 3) [46, 47].



GPx широко распространены в тканях животных. Помимо H_2O_2 GPx могут взаимодействовать и с другими пероксидами, встречающимися в клетках [48]. Кроме реакций, опосредованных GPx, GSH напрямую или через другие ферментативные реакции участвует в нейтрализации свободных радикалов, в том числе АФК [49].

Известно, что окисление пула глутатиона опосредует активацию многих клеточных сигнальных путей (протеинкиназы B, протеинфосфатаз 1 и 2A, ядерного фактора κB , c-Jun N-концевой киназы и других), что в целом приводит к снижению клеточной пролиферации и может вызвать апоптоз [39].

Таким образом, GSSG и GSH являются важнейшей редокс-парой клетки, которая обеспечивает

функционирование антиоксидантных систем, поддержание общего клеточного метаболизма и регуляцию сигнальных путей.



Тиоредоксины (Trx) формируют еще одну важную систему клетки, участвующую в тиол-дисульфидном обмене. Trx представляют собой семейство небольших по размеру белков, которые в окисленном (TrxSS) и восстановленном (Trx(SH)₂) состояниях образуют редокс-пару, взаимодействующую с другой редокс-парой клетки – GSSG/2GSH [50]. Процессы тиол-дисульфидного обмена с участием Trx осуществляются благодаря наличию двух остатков цистеина в активном центре этих белков [51, 52]. Для Trx из разных источников характерно наличие консервативной аминокислотной последовательности в активном центре и в некоторых других позициях [52].

Диапазон внутриклеточной концентрации Trx составляет от 1 до 10 мкМ в тканях эукариот [53] и до 15 мкМ в бактериях [54]. Таким образом, уровень Trx в различных клетках примерно в 100–1000 раз ниже уровня глутатиона.

Для человеческих клеток характерно наличие нескольких изоформ Trx. Выделяют цитозольную изоформу Trx1 [55], митохондриальную Trx2 [56], секреторную Trx80 [52] и SpTrx, которую обнаружили в сперматозоидах [57]. Trx1, который чаще встречается в цитоплазме клеток, может также перемещаться в ядро [58], связываться с клеточной мембраной [59] и даже секретироваться за пределы клетки, выступая в роли хемоаттрактанта [60] или ростового фактора [61] для некоторых типов клеток. Несмотря на то, что часть цитоплазматического Trx1 при окислительном стрессе перемещается в ядро, имеются данные о том, что регуляция Trx1 в цитоплазме и ядре происходит независимым образом. То же самое касается и митохондриального Trx2 [62, 63].

Подобно глутатиону, белки семейства Trx также образуют независимо контролируемые пулы в разных клеточных компартментах. В зависимости от типа и состояния клеток редокс-потенциал митохондриального Trx2 находится в диапазоне –360...–340 мВ. Для сравнения, редокс-потенциал цитоплазматического и ядерного Trx1 составляет –280...–300 мВ при pH 7.0 [34]. Принимая к тому же во внимание данные о редокс-статусе глутатиона, можно сделать вывод, что митохондрии являются наиболее восстановленным компартментом клетки.

Trx восстанавливают дисульфидные связи белков клетки, переходя в окисленную форму с образованием дисульфида в активном центре. Восстановление TrxSS осуществляют NADPH-зависимые тиоредоксинредуктазы TrxR [50, 52, 64]. Принцип

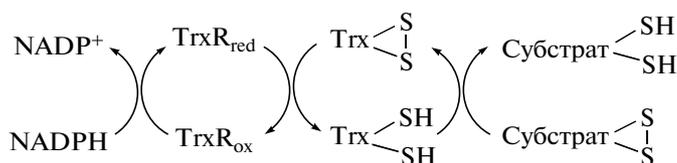


Рис. 2. Принцип работы тиоредоксинзависимой системы. Тиоредоксин (Trx) восстанавливает дисульфидную связь субстрата и переходит в окисленную форму. Восстановление Trx осуществляет NADPH-зависимая тиоредоксинредуктаза (TrxR).

работы тиоредоксинзависимой системы представлен на рис. 2.

В клетках млекопитающих были выявлены цитоплазматическая изоформа TrxR1, митохондриальная TrxR2 и уникальный фермент, который был назван тиоредоксинглутатионредуктазой (TGR), поскольку он участвует в восстановлении Trx и GSSG одновременно [65–67]. Интересно, что в клетках *Drosophila melanogaster* отсутствует глутатионредуктаза, которая восстанавливает окисленный пул глутатиона; эту функцию выполняет тиоредоксинзависимая система [68].

По первичной структуре TrxR млекопитающих имеет сходство с другими дисульфидоксидоредуктазами, такими как глутатионредуктаза и липоамиддегидрогеназа. Однако, только для TrxR характерно наличие селеноцистеинсодержащего домена [69]. Благодаря расшифровке кристаллической структуры TrxR1 стал известен механизм работы этого фермента, функционирующего в димерном состоянии. Восстановительные эквиваленты транспортируются от NADPH через простетическую группу FAD на дисульфид активного центра TrxR, расположенного в N-концевом домене одной субъединицы. Далее перенос электронов осуществляется на селеноцистеинсодержащий активный центр другой субъединицы, а затем на субстрат [70]. TrxR млекопитающих, помимо самого Trx, могут восстанавливать множество других белков и низкомолекулярных соединений. Так, TrxR1 может восстанавливать H₂O₂ при его больших концентрациях в клетке, а также гидроперекиси липидов. Это служит дополнительным механизмом защиты при окислительном стрессе [71, 72].

Восстанавливая дисульфиды и защищая многие белки от последствий окисления, тиоредоксины играют важную роль во многих клеточных процессах. Trx участвуют в тонкой регуляции некоторых транскрипционных факторов и влияют на экспрессию генов [52, 73–75]. Trx выступают в роли доноров электронов для пероксиредоксинов [52, 76], рибонуклеотидредуктаз, метионин-сульфоксидредуктаз [52]. Являясь регуляторами важнейших клеточных функций [77, 78], Trx имеют огромное значение для выживаемости клеток, в том числе при патологических состояниях [79, 80].

NAD⁺/NADH

Клеточное соотношение NAD⁺/NADH является ключевым параметром, который отражает общее редокс-состояние клеток. В связи с отсутствием подходящих методов изучения долгое время было принято считать, что основная функция β-никотинамидадениндинуклеотида (NAD) заключается в его участии в клеточных процессах энергетического обмена. Однако оказалось, что функции этой молекулы гораздо разнообразнее и затрагивают широкий спектр проблем. Благодаря NAD-зависимой регуляции многих белков (различные дегидрогеназы, моно(ADP-Rib)-трансферазы, ADP-рибозилциклазы, сиртуины и другие) [81] от показателя соотношения NAD⁺/NADH зависят многие важные клеточные процессы, в том числе клеточная смерть [81–83], экспрессия некоторых генов [84] и клеточный сигналинг [81, 85]. Поддержание величины соотношения NAD⁺/NADH на определенном уровне препятствует повреждению внутриклеточных структур от окисления [86]. Также есть данные о том, что в течение жизни в тканях некоторых организмов соотношение NAD⁺/NADH меняется [87–89].

Молекула NAD представляет собой динуклеотид, составные нуклеотиды которого соединены друг с другом через остатки фосфорной кислоты (таблица). Азотистыми основаниями нуклеотидов NAD являются аденин и никотинамид. NAD⁺ принимает пару электронов от окисляемого субстрата в составе протона H⁺ и гидрид-иона H⁻. При этом H⁺ высвобождается в окружающую среду. Оставшийся атом водорода присоединяется к четвертому углероду никотинамидного кольца, а электрон распределяется в его плоскости. Этот процесс обратим, и восстановленная молекула NADH в дальнейшем может передавать электроны на какой-либо субстрат [90]. Для большинства тканей общая концентрация NAD⁺ и NADH составляет примерно 10⁻⁵ М [90]. Наиболее важным клеточным параметром является соотношение окисленной и восстановленной форм данного кофактора. В митохондриях соотношение NAD⁺/NADH меняется в пределах от 7–8 до 1, в то время как в цитоплазме этот параметр имеет более широкий диапазон значений – от 700 до 1 [81, 91, 92].

В клетках существует несколько путей синтеза NAD. В самом простом случае NAD может быть получен из уже имеющихся в клетке предшественников, например, из молекулы ниацина [93, 94]. С другой стороны, синтез NAD может начинаться с триптофана, этот путь более сложный и включает в себя серию ферментативных реакций [95]. Ключевым ферментом синтеза NAD, независимо от того, по какому пути он протекает, является никотинамидмононуклеотид-аденилтрансфераза (NMNAT). NMNAT осуществляет обратимую ре-

акцию синтеза NAD из никотинамидмононуклеотида (NMN) с использованием энергии ATP [95, 96]. Известно несколько изоформ этого фермента, локализованных в ядре (NMNAT-1), митохондриях (NMNAT-3), аппарате Гольджи (NMNAT-2) [95–97]. Подобная компарментализация изоформ этого фермента может свидетельствовать об осуществлении независимого синтеза NAD в соответствующих органеллах клетки [96]. Исследования *in vitro* показали, что NMNAT-1 может взаимодействовать с ферментом poly(ADP-Rib)-полимеразой-1 (PARP-1) и ингибировать ее активность [98]. Различные PARP являются одними из главных потребителей клеточного NAD⁺, поскольку с его участием эти ферменты осуществляют такую посттрансляционную модификацию, как поли-ADP-рибозилирование различных белков [99]. По всей видимости, в живых клетках взаимодействия белков NMNAT и PARP играют важную роль в регуляции метаболизма NAD.

Внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для обеих форм NAD. Однако в клетке происходит постоянный обмен восстановительными эквивалентами между цитоплазмой и митохондриями, для этого существуют специализированные челночные механизмы. В зависимости от субстратной пары и типа клеток реализуется глицеролфосфатный или малатаспартатный механизмы [93, 100]. Есть результаты исследований, свидетельствующие о транспорте NAD через плазматическую мембрану клеток. Для фибробластов было показано, что транспорт NAD⁺ может осуществляться через коннексин 43 [101]. В ряде работ описан транспорт как NAD⁺, так и NADH через плазматическую мембрану астроцитов [102–105].

NAD⁺ и NADH являются ключевыми факторами энергетического метаболизма клеток, что подробно описано во многих классических учебниках по биохимии [90, 93]. NAD⁺ выступает в роли универсального акцептора восстановительных эквивалентов, которые образуются в процессе окисления различных субстратов с участием специфичных дегидрогеназ. В цитоплазме NADH может быть вновь окислен. Например, лактатдегидрогеназа осуществляет реакцию превращения пирувата в лактат с использованием NADH. Но главным клеточным потребителем NADH является дыхательная цепь митохондрий на уровне комплекса I. Получение доступной энергии в виде высокоэнергетической фосфатной связи молекулы ATP обусловлено, главным образом, именно функционированием дыхательной цепи, формирующей на мембране необходимый для работы H⁺-АТФ-синтазы протонный потенциал ΔμH, и, в меньшей степени, субстратным фосфорилированием [90, 93].

Понимание принципов регуляции энергетического обмена клетки постоянно расширяется

благодаря открытию новых взаимосвязей между NAD и различными клеточными компонентами. Например, действие NAD⁺ на энергетический метаболизм клетки может быть опосредовано через регуляцию белков семейства сиртуинов, модулирующих, в свою очередь, гликолиз, синтез глюкогена, а также активность ацетил-CoA-синтетазы [106–108]. NAD⁺ и NADH участвуют в регуляции работы митохондрий не только на уровне цикла трикарбоновых кислот и электронтранспортной цепи, но и на уровне регуляции проницаемости митохондриальной мембраны, определяющей активность всей органеллы в целом [109, 110].

Сиртуины представляют собой семейство ферментов, активность которых зависит от соотношения NAD⁺/NADH [111]. Примером этой группы белков в клетках млекопитающих является Sir1, NAD⁺-зависящая гистоновая деацетилаза из семейства сиртуинов, которая участвует в посттрансляционной модификации белков [112]. Ферменты данного типа осуществляют деацетилирование белков с использованием NAD⁺ в качестве акцептора ацетильной группы; в результате образуются никотинамид и *O*-ацетил-ADP-Rib [113]. Сиртуины задействованы в регуляции многих клеточных процессов. Есть сведения об их участии в определении общей продолжительности жизни организмов [114–117]. Однако точный механизм этих процессов пока неизвестен. Более того, недавно появились данные, которые ставят под сомнение существование выраженного влияния сиртуинов на продолжительность жизни некоторых организмов [118].

Установлено, что в регуляции теломеразной активности участвуют NAD⁺-зависимые ферменты танкиразы [119, 120]. Также у некоторых видов млекопитающих была обнаружена корреляция между активностью ферментов PARP в одноклеточных кровяных клетках с продолжительностью их жизни, что может быть связано с участием PARP в процессах репарации ДНК [121–123].

Белки PARP, осуществляющие реакцию поли-ADP-рибозилирования различных белков клетки, также являются важными клеточными потребителями NAD⁺. В нормальном физиологическом состоянии PARP осуществляют регуляцию многих процессов. Известно, что эти ферменты также вовлечены в формирование некоторых патологических состояний [82, 83]. Активация PARP-1 может происходить в ответ на повреждения ДНК в условиях окислительного стресса или благодаря воздействию алкилирующих агентов. Повышенная активность PARP-1 отмечена при клеточной гибели, вызванной ишемией головного мозга [124–127]. Увеличение активности PARP-1 характерно также при повреждении мозга вследствие травм, гипогликемии, диабета, различных воспалительных процессов [81, 128–130]. При повышенной активности PARP-1 происходит истощение клеточного

содержания NAD⁺, что является одной из причин гибели клеток [82, 83, 103], в частности, из-за ингибирования гликолиза и изменения неспецифической проницаемости митохондрий (Mitochondrial Permeability Transition (MPT)). Под этим термином понимают свободное перемещение различных соединений через внутреннюю мембрану митохондрий, которое невозможно при нормальных условиях. Отчасти это происходит благодаря тому, что при истощении NAD⁺ клетка начинает активно пополнять его пул, используя ATP и ADP [82, 83]. При этом ATP и ADP ингибируют процесс формирования MPT. Более того, соотношение NAD⁺/NADH также является важным регулятором MPT [110]. С другой стороны, прекращение подачи субстратов в митохондрии, вызванное истощением пула NAD⁺, также сказывается на функционировании этой органеллы в целом. Скорее всего, совокупность всех описанных процессов приводит к тому, что работа митохондрий нарушается. Изменение проницаемости митохондриальной мембраны приводит к ее деполяризации, снижается уровень синтеза ATP. На заключительной стадии из митохондрии высвобождается апоптозиндуцирующий фактор (AIF). В итоге клетка погибает [82, 83]. На рис. 3 представлена схема возможных событий при гибели клетки с участием PARP-1.

Клеточная гибель с участием PARP-1 не ограничивается процессами, описанными выше. Известно, что могут быть задействованы разные клеточные каскады, кроме того в повреждении клетки могут принимать участие и другие представители семейства PARP [131, 132].

Расщепление poly(ADP-Rib) с образованием ADP-Rib осуществляют poly(ADP-Rib)-гликогидролазы (PARG) [133, 134]. PARG наравне с PARP участвуют в регуляции многих клеточных процессов [131, 135–139].

Соотношение NAD⁺/NADH вместе с фосфорилированной формой кофактора NADP⁺/NADPH задействовано в тонкой регуляции уровня такого важного вторичного мессенджера клетки, как Ca²⁺ (рис. 4). Главным образом эта регуляция осуществляется соединениями, предшественниками которых является молекула NAD⁺. К ним относятся ADP-Rib, cADP-Rib, *O*-ацетил-ADP-Rib, адениндинуклеотидфосфат никотиновой кислоты (NAADP).

ADP-рибозилциклазы, образующие cADP-Rib, обнаружены в клетках самых различных типов и используют в качестве субстрата NAD⁺. cADP-Rib служит эффективным Ca²⁺-высвобождающим агентом благодаря регуляции риадиноновых рецепторов [140–142]. Имеются данные о том, что cADP-Rib может также участвовать в регуляции TRPM2-рецепторов (Transient Receptor Potential cation channel, subfamily M, member 2) [143]. Но все же

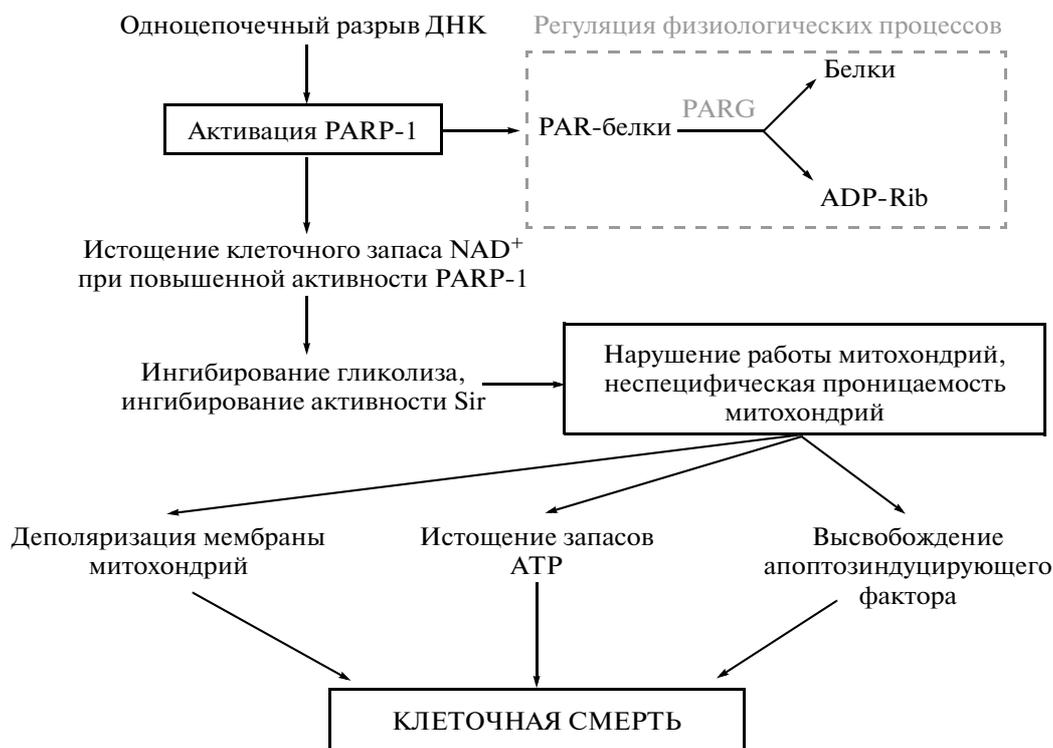


Рис. 3. Участие PARP-1 в клеточной гибели.

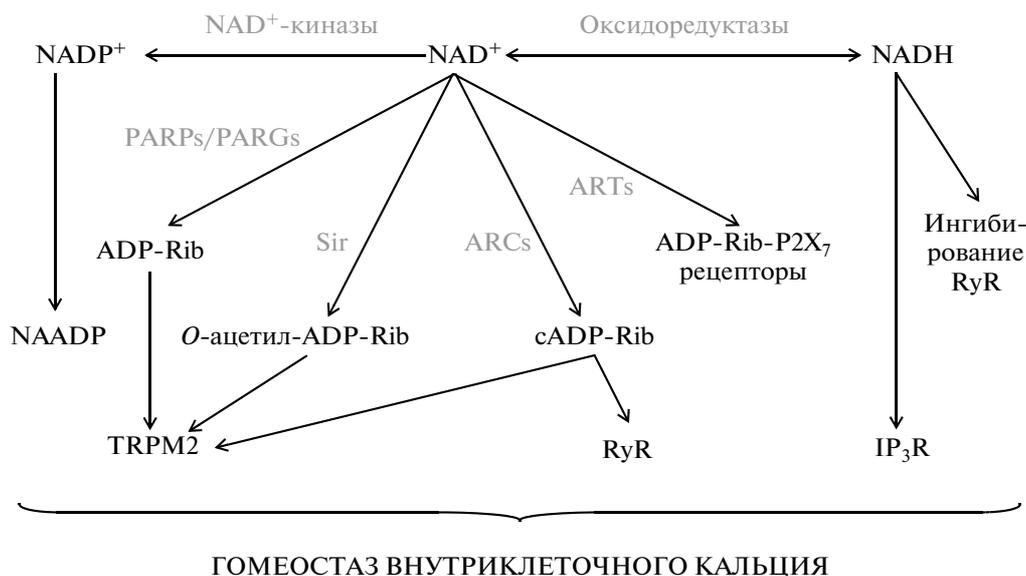


Рис. 4. Участие NAD(P) в регуляции уровня клеточного Ca^{2+} .

главным активатором TRPM2 является cADP-Rib, которая образуется в результате работы ферментов PARP и PARG [144, 145]. Другим регулятором TRPM2 является *O*-ацетил-ADP-Rib – продукт реакции, катализируемой Sir2 (см. рис. 4) [146].

Другим примером регуляции $[\text{Ca}^{2+}]$ с участием NAD являются белки семейства ARTs, которые, используя NAD^+ , осуществляют моно-cADP-рибозилирование различных белков [147, 148], в том числе пуринорецепторов P2X_7 , также ответствен-

ных за регуляцию $[Ca^{2+}]$ в цитоплазме клеток [149]. NADP также участвует в регуляции уровня $[Ca^{2+}]$ [141, 150–152]. В некоторых условиях величина соотношения $NAD^+/NADH$ может уменьшаться за счет восстановления общего пула NAD. Оказалось, что и NADH имеет отношение к кальциевому гомеостазу клетки. Известно, что NADH способствует высвобождению Ca^{2+} через регуляцию IP_3 рецепторов эндоплазматического ретикулума [153, 154]. Также было показано, что NADH может ингибировать риадиноновые рецепторы, что особенно выражено в сердечной мышце [155, 156]. Кроме того, редокс-состояние пары $NAD^+/NADH$ само по себе может модулировать сигнальные пути клетки с участием кальция [157].

От соотношения $NAD^+/NADH$ зависит экспрессия некоторых генов. Упомянутый ранее фермент PARP-1 контролирует работу многих белков, в том числе транскрипционных факторов, например, p53, AP-1, NF- κ B [81]. Увеличение концентрации свободного NADH в ядре приводит к активации репрессора CtBP (carboxyl-terminal binding protein), который вовлечен в процессы регуляции клеточного цикла [158]. Связывание ДНК гетеродимерными транскрипционными факторами Clock:BMAL1 и NPAS2:BMAL1, участвующими в формировании циркадных ритмов, усиливается в присутствии NADH и NADPH и, наоборот, ингибируется окисленными формами кофакторов, что косвенно свидетельствует о возможной зависимости циркадных ритмов организмов от соотношения $NAD^+/NADH$ [84].

Значение такого клеточного параметра, как соотношение $NAD^+/NADH$, трудно переоценить. От этого показателя зависят энергетические процессы клетки и общее редокс-состояние клетки.

NADP⁺/NADPH

β -Никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADP) отличается от NAD наличием остатка фосфорной кислоты в положении 2' рибозы никотинового нуклеотида (см. таблицу). Этот кофермент встречается во всех типах клеток и также представлен в них в окисленной ($NADP^+$) и восстановленной ($NADPH$) формах. Для метаболизма клетки соотношение $NADP^+/NADPH$ играет не менее важную роль, чем соотношение $NAD^+/NADH$.

Внутриклеточная концентрация NADP в физиологических условиях значительно ниже по сравнению с концентрацией NAD; так, в клетках печени крысы она ниже примерно на порядок. Однако общий пул NADP в клетке более восстановлен по сравнению с пулом NAD. Общее клеточное соотношение $NADP^+/NADPH$ составляет примерно 0.005 [86, 91, 131, 159].

Образование $NADP^+$ в клетке происходит при фосфорилировании NAD^+ , реакцию катализируют NAD^+ -киназы (NADKs) [160]. Эти ферменты играют важнейшую роль в поддержании общего уровня NADP в клетке, их активность тщательнейшим образом контролируется [86, 161, 162]. Восстановленная форма NADPH образуется в клетке в результате окислительно-восстановительных реакций, катализируемых различными дегидрогеназами [131]. Кроме того, митохондриальная трансгидрогеназа, которая расположена на внутренней мембране митохондрий, осуществляет перенос восстановительных эквивалентов между пулом NAD и NADP. Благодаря этому ферменту восстановление $NADP^+$ может происходить за счет NADH [163, 164], что повышает эффективность антиоксидантной системы защиты митохондрий [131].

Таким образом, оба типа ферментов – и NADKs, и митохондриальная трансгидрогеназа осуществляют важнейшую роль в поддержании баланса между клеточными пулами NAD и NADP.

Пара $NADP^+/NADPH$ участвует в регуляции многих окислительно-восстановительных реакций клетки, в том числе реакций антиоксидантных систем. Ранее было отмечено, что глутатионзависимая и тиоредоксинзависимая системы используют в качестве восстановительных эквивалентов молекулы NADPH для восстановления глутатиона и тиоредоксина, соответственно. Для некоторых типов клеток характерно связывание большого количества NADPH каталазой – ферментом, осуществляющим деграцию H_2O_2 [165]. NADH поставляет электроны в дыхательную цепь, но интенсивная генерация NADH приводит к увеличению H^+ -градиента на митохондриальной мембране, что, с одной стороны, позволяет клетке запастись энергией, но с другой – работа электрон-транспортной цепи служит источником образования АФК. Как ни странно, наряду с антиоксидантными системами клетки, одним из главных потребителей NADPH является система, продуцирующая АФК.

Белки семейства NOX (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidases) являются трансмембранными NADPH-оксидазами. Используя NADPH в качестве донора, эти ферментные комплексы осуществляют перенос электронов через биологические мембраны. Кислород служит акцептором электронов, что приводит к образованию $O_2^{\cdot-}$, причем это один из главных путей его образования в клетках [166, 167]. В фагоцитирующих клетках один из представителей семейства NOX является важнейшим компонентом борьбы с патогенами [168, 169]. NOX2, используя NADPH в качестве донора, осуществляет перенос электронов внутрь фагосомы с цитоплазматической стороны клетки. Это

приводит к мощной генерации внутри фагосомы O_2^- , быстро превращающегося в H_2O_2 . В случае нейтрофилов, благодаря миелопероксидазе, с участием H_2O_2 образуется еще более реактивное соединение — хлорноватистая кислота [170]. Позднее генерация АФК была обнаружена и в других типах клеток, большинство из которых не имеют никакого отношения к фагоцитозу [166]. Именно благодаря изучению сложных комплексов этих белков стало понятно, что роль АФК в разнообразных клетках очень велика и не ограничивается одним лишь повреждением клетки, как считалось ранее.

NADP также выполняет важную роль в регуляции сигнальных путей клетки, в том числе в регуляции внутриклеточной концентрации Ca^{2+} . NADP⁺ является субстратом для образования NAADP — важного регулятора Ca^{2+} в клетке [171, 172]; по некоторым данным от NAADP зависит работа TRPM2-каналов в Т-лимфоцитах [173]. Поскольку в настоящий момент доказана роль АФК в клеточных сигнальных каскадах, участие NADP в сигналинге опосредовано также работой NADPH-оксидаз и систем антиоксидантной защиты клетки. Модулируя клеточное редокс-состояние, АФК задействованы в контроле экспрессии некоторых генов [27].

Поскольку пул NADP, как и пул NAD, вовлечен в различные окислительно-восстановительные реакции клетки, многие процессы метаболизма зависят от соотношения окисленной и восстановленной форм данного кофактора, NADP⁺/NADPH. Пул NADPH служит главным ресурсом электронов в клетке, поэтому этот кофактор используется в реакциях биосинтеза важнейших молекул, например, жирных кислот, стероидов, аминокислот и других [86].

ФЛАВИНЫ

Флавиномононуклеотид (FMN) и флавинадениндинуклеотид (FAD) — одни из самых универсальных клеточных редокс-активных кофакторов [174]. Флавопротеины, содержащие FMN и FAD в качестве простетических групп, катализируют многие одно- и двухэлектронные редокс-реакции и являются ключевыми ферментами в таких процессах, как фотосинтез, цикл Кребса, β -окисление жирных кислот, аэробное дыхание и многих других [175]. Важную роль флавопротеины играют в биосинтезе различных природных галогенпроизводных, в фоторепарации ДНК и апоптозе [176–178].

Около 16% флавопротеинов в качестве кофактора содержат FMN, остальные — FAD, при этом около 90% флавопротеинов связывают кофактор нековалентно [179]. Большая часть флавопротеинов специфична к одному из кофакторов, однако

было обнаружено несколько человеческих флавопротеинов, которые могут использовать и FAD, и FMN [179]. Большая часть флавопротеинов человека, которых по последним данным описано около 276, относится к оксидоредуктазам, но встречаются они и среди трансфераз, лиаз, изомераз, лигаз [180].

В основе молекул FMN и FAD лежит изоаллоксазин — гетероциклическое соединение, построенное из бензольного, пиримидинового и пиазинового колец (см. таблицу). Изоаллоксазиновое ядро способно обратимо принимать и отдавать один или два электрона и может активироваться под действием кислорода [181]. Благодаря этой особенности строения большинство флавинозависимых ферментов катализируют различные клеточные редокс-реакции.

Предшественником FMN и FAD является витамин B₂ (рибофлавин). В человеческом геноме содержится около 90 генов, кодирующих флавинозависимые ферменты, 6 генов для поглощения рибофлавина и его последующего превращения в FMN и FAD, 2 гена для восстановления рибофлавина до дигидрорибофлавина [179]. Мутации в этих генах часто связаны с патогенезом различных заболеваний. Так как большая часть функциональной активности флавопротеинов приходится на митохондрии, эти заболевания чаще всего связаны именно с митохондриальными дисфункциями. Реже нарушения затрагивают пероксисомы и эндоплазматический ретикулум [179].

Редокс-потенциал изоаллоксазинового кольца (–209 мВ) [181] позволяет ему принимать участие в метаболизме многих молекул. Результатом таких реакций становятся обратимые взаимопревращения одинарных и двойных связей [182]. Помимо этого, восстановленное изоаллоксазиновое кольцо может взаимодействовать с молекулярным кислородом, образуя пероксифлавин [181], который, например, участвует в деградации ароматических метаболитов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Состояние живых клеток полностью зависит от редокс-статуса их внутренней среды. Многие внутриклеточные процессы чувствительны даже к небольшим изменениям редокс-окружения, что используется клеткой для инициации многих сигнальных каскадов. В основе редокс-сигналинга лежат изменения электрохимического потенциала определенных редокс-пар. Термин редокс-пара обозначает существование в клетке определенного соединения одновременно в окисленном и восстановленном состояниях, причем переход из одного состояния в другое обратим. Важным клеточным редокс-показателем является соотношение

окисленной и восстановленной форм подобного соединения. Некоторые из редокс-пар являются универсальными, поскольку выступают связующими звеньями во многих разных клеточных редокс-процессах. В таблице представлены главные редокс-пары клетки. Редокс-состояние этих пар отражает общее редокс-состояние клетки.

Ярким примером является редокс-пара NAD^+/NADH , которая была подробно изучена Г. Кребсом (H. Krebs) [91, 92, 183, 184]. Как выяснилось позже, соотношение NAD^+/NADH является важнейшим клеточным параметром, определяющим регуляцию таких биологических процессов, как энергетический метаболизм, сигналинг, поддержание общего редокс-статуса клетки, экспрессия генов, старение и клеточная смерть. Общий пул NAD тесно связан с пулом другого редокс-активного соединения – NADP , образующего редокс-пару $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$. NAD^+ это ключевая молекула для обоих пулов – NAD и NADP , поскольку синтезируется *de novo* и служит предшественником для NADH , NADP^+ и NADPH .

Несмотря на тесную взаимосвязь, биологические функции NAD и NADP все же различаются. Главным образом за счет того, что пул NADP более восстановлен по сравнению с пулом NAD . Для большинства клеток характерно среднее соотношение $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ около 1/100, в то время как соотношение NAD^+/NADH может достигать значений близких к 1000/1 [91, 92, 185]. При соотношении 1/100 расчетная величина редокс-потенциала $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ составляет –374 мВ [37]; экспериментально определенная для цитоплазмы клеток печени эта величина имеет близкое значение – –390 мВ [186, 187]. Для сравнения, редокс-потенциал цитоплазматического пула NAD^+/NADH в клетках печени составляет около –250 мВ, что соответствует соотношению свободного NAD^+/NADH примерно 500/1 [188].

Благодаря высоко восстановленному состоянию клеточный пул NADP выступает в роли главного источника восстановительных эквивалентов для многих реакций, поддерживая, таким образом, общее редокс-состояние клетки. Интересно, что наряду с этим NAD и NADP играют ведущую роль и в продукции АФК в клетках. NADH поставляет электроны в дыхательную цепь митохондрий, которая является одним из главных источников АФК клетки. Основным же источником, целенаправленно производящим АФК, являются NADPH -оксидазы. Эти ферменты используют NADPH в качестве донора электронов, которые они переносят через биологические мембраны на кислород с образованием $\text{O}_2^{\cdot-}$. Известно, что АФК могут выступать в роли регуляторов сигнальных

каскадов клетки. Одновременно с этим АФК представляют собой повреждающие факторы и являются причиной гибели клетки как при патологиях, так и в норме. Таким образом, NAD и NADP задействованы в тонко сбалансированной регуляции одновременно двух важнейших противоположных по своему значению процессов клетки: работе антиоксидантных систем и продукции АФК.

Глутатионзависимая и тиоредоксинзависимая системы клетки также используют восстановленный NADP , из-за его более отрицательного редокс-потенциала, для восстановления глутатиона и тиоредоксина – основных компонентов тиол-дисульфидного обмена клетки [189]. Глутатион, клеточная концентрация которого может достигать значений нескольких миллимоль, является основным тиол-дисульфидным редокс-буфером клетки. Его редокс-состояние можно рассматривать в качестве индикатора, отражающего общее редокс-состояние клетки. От соотношения $\text{GSSG}/2\text{GSN}$ зависят многие глобальные клеточные процессы, в том числе пролиферация, дифференциация и клеточная смерть. Тиоредоксинзависимая система считается более специфичной и избирательной, ее функции перекрываются в регуляции тиол-дисульфидного обмена клетки с функциями глутатионзависимой системы.

Основные редокс-пары клетки образуют сложную сеть взаимодействий, связывая разобщенные на первый взгляд процессы в единый механизм. Многие о точных взаимодействиях редокс-регуляции клетки до сих пор остается неизвестным. На протяжении долгого времени отсутствовали методы, позволяющие изучать редокс-процессы в живых клетках. Перспективным, стремительно развивающимся направлением для изучения редокс-процессов на уровне живой клетки, ее отдельных компартментов или целого организма является разработка генетически кодируемых флуоресцентных биосенсоров на базе флуоресцентных белков. Некоторые из таких биосенсоров уже позволяют исследовать роль соотношения $\text{GSSG}/2\text{GSN}$ в моделях различной сложности [20, 35, 190, 191]. Недавно был разработан ряд биосенсоров, позволяющих регистрировать динамику изменения соотношения NAD^+/NADH в живых клетках и их компартментах [192–194]. Использование этих инструментов, а также разработка новых, вполне вероятно, приведет к открытию новых закономерностей клеточной редокс-регуляции.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана грантом Российского Научного Фонда № 14-14-00747.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gilbert H.F. // *Adv. Enzymol.* 1990. V. 63. P. 69–172.
2. Morgan B., Ezeriņa D., Amoako T.N., Riemer J., Seedorf M., Dick T.P. // *Nat. Chem. Biol.* 2013. V. 9. P. 119–125.
3. Griffith O.W. // *Free Radic. Biol. Med.* 1999. V. 27. P. 922–935.
4. Wu G., Fang Y.Z., Yang S., Lupton J.R., Turner N.D. // *J. Nutr.* 2004. V. 134. P. 489–492.
5. Deponte M. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2013. V. 1830. P. 3217–3266.
6. Ghezzi P. // *Free Radic. Res.* 2005. V. 39. P. 573–580.
7. Wang J., Boja E.S., Tan W., Tekle E., Fales H.M., English S., Mieyal J.J., Chock P.B. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 47763–47766.
8. Chen Y.R., Chen C.L., Pfeiffer D.R., Zweier J.L. // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. P. 32640–32654.
9. Eaton P., Wright N., Hearse D.J., Shattock M.J. // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2002. V. 34. P. 1549–1560.
10. Adachi T., Pimentel D.R., Heibeck T., Hou X., Lee Y.J., Jiang B., Ido Y., Cohen R.A. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 29857–29862.
11. Fernandes A.P., Holmgren A. // *Antioxid. Redox Signal.* 2004. V. 6. P. 63–74.
12. Lundberg M., Johansson C., Chandra J., Enoksson M., Jacobsson G., Ljung J., Johansson M., Holmgren A. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 26269–26275.
13. Wingert R.A., Galloway J.L., Barut B., Foott H., Fraenkel P., Axe J.L., Weber G.J., Dooley K., Davidson A.J., Schmid B., Paw B.H., Shaw G.C., Kingsley P., Palis J., Schubert H., Chen O., Kaplan J., Zon L.I. // *Nature.* 2005. V. 436. P. 1035–1039.
14. Deponte M., Urig S., Arscott L.D., Fritz-Wolf K., Reau R., Herold-Mende C., Koncarevic S., Meyer M., Davioud-Charvet E., Ballou D.P., Williams C.H., Jr., Becker K. // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. P. 20628–20637.
15. Karplus P.A., Schulz G.E. // *J. Mol. Biol.* 1989. V. 210. P. 163–180.
16. Schulz G.E., Schirmer R.H., Sachsenheimer W., Pai E.F. // *Nature.* 1978. V. 273. P. 120–124.
17. Go Y.M., Jones D.P. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2008. V. 1780. P. 1273–1290.
18. Circu M.L., Aw T.Y. // *Free Radic. Biol. Med.* 2010. V. 48. P. 749–762.
19. Meister A., Anderson M.E. // *Annu. Rev. Biochem.* 1983. V. 52. P. 711–760.
20. Gutschner M., Pauleau A.L., Marty L., Brach T., Wabnitz G.H., Samstag Y., Meyer A.J., Dick T.P. // *Nat. Methods.* 2008. V. 5. P. 553–559.
21. Ostergaard H., Tachibana C., Winther J.R. // *J. Cell Biol.* 2004. V. 166. P. 337–345.
22. Dijkwel P.A., Wenink P.W. // *J. Cell Sci.* 1986. V. 84. P. 53–67.
23. Klug A., Rhodes D. // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 1987. V. 52. P. 473–482.
24. De Capoa A., Ferraro M., Lavia P., Pelliccia F., Finazzi-Agro A. // *J. Histochem. Cytochem.* 1982. V. 30. P. 908–911.
25. Suthanthiran M., Anderson M.E., Sharma V.K., Meister A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1990. V. 87. P. 3343–3347.
26. Sandstrom B.E., Marklund S.L. // *Biochem. J.* 1990. V. 271. P. 17–23.
27. Sen C.K., Packer L. // *Faseb. J.* 1996. V. 10. P. 709–720.
28. Chen J., Delannoy M., Odwin S., He P., Trush M.A., Yager J.D. // *Toxicol. Sci.* 2003. V. 75. P. 271–278.
29. Jocelyn P.C., Kamminga A. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1974. V. 343. P. 356–362.
30. Schnellmann R.G. // *Life Sci.* 1991. V. 49. P. 393–398.
31. Griffith O.W., Meister A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1985. V. 82. P. 4668–4672.
32. Kurosawa K., Hayashi N., Sato N., Kamada T., Tagawa K. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1990. V. 167. P. 367–372.
33. Lash L.H. // *Chem. Biol. Interact.* 2006. V. 163. P. 54–67.
34. Kemp M., Go Y.M., Jones D.P. // *Free Radic. Biol. Med.* 2008. V. 44. P. 921–937.
35. Ostergaard H., Henriksen A., Hansen F.G., Winther J.R. // *EMBO J.* 2001. V. 20. P. 5853–5862.
36. Hu J., Dong L., Outten C.E. // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. P. 29126–29134.
37. Schafer F.Q., Buettner G.R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple // *Free Radic. Biol. Med.* 2001. V. 30. P. 1191–1212.
38. Hwang C., Sinskey A.J., Lodish H.F. // *Science.* 1992. V. 257. P. 1496–1502.
39. Sen C.K. // *Curr. Top. Cell. Regul.* 2000. V. 36. P. 1–30.
40. Cenci S., Sitia R. // *FEBS Lett.* 2007. V. 581. P. 3652–3657.
41. Appenzeller-Herzog C., Riemer J., Zito E., Chin K.T., Ron D., Spiess M., Ellgaard L. // *EMBO J.* 2010. V. 29. P. 3318–3329.
42. Appenzeller-Herzog C. // *J. Cell Sci.* 2011. V. 124. P. 847–855.
43. Merksamer P.I., Trusina A., Papa F.R. // *Cell.* 2008. V. 135. P. 933–947.
44. Waypa G.B., Marks J.D., Guzy R., Mungai P.T., Schriewer J., Dokic D., Schumacker P.T. // *Circ. Res.* 2010. V. 106. P. 526–535.
45. Morgan B., Sobotta M.C., Dick T.P. // *Free Radic. Biol. Med.* 2011. V. 51. P. 1943–1951.
46. Bhabak K.P., Muges G. // *Acc. Chem. Res.* 2010. V. 43. P. 1408–1419.
47. Flohe L., Gunzler W.A., Schock H.H. // *FEBS Lett.* 1973. V. 32. P. 132–134.
48. Chance B., Sies H., Boveris A. // *Physiol. Rev.* 1979. V. 59. P. 527–605.
49. Fang Y.Z., Yang S., Wu G. // *Nutrition.* 2002. V. 18. P. 872–879.
50. Nakamura H., Nakamura K., Yodoi J. // *Annu. Rev. Immunol.* 1997. V. 15. P. 351–369.
51. Holmgren A. // *Structure.* 1995. V. 3. P. 239–243.
52. Arner E.S., Holmgren A. // *Eur. J. Biochem.* 2000. V. 267. P. 6102–6109.

53. *Holmgren A., Luthman M.* // *Biochemistry*. 1978. V. 17. P. 4071–4077.
54. *Holmgren A., Ohlsson I., Grankvist M.L.* // *J. Biol. Chem.* 1978. V. 253. P. 430–436.
55. *Nordberg J., Arner E.S.* // *Free Radic. Biol. Med.* 2001. V. 31. P. 1287–1312.
56. *Spyrou G., Enmark E., Miranda-Vizuete A., Gustafsson J.* // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. P. 2936–2941.
57. *Miranda-Vizuete A., Ljung J., Damdimopoulos A.E., Gustafsson J.A., Oiko R., Pelto-Huikko M., Spyrou G.* // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 31567–31574.
58. *Hirota K., Matsui M., Iwata S., Nishiyama A., Mori K., Yodoi J.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1997. V. 94. P. 3633–3638.
59. *Martin H., Dean M.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1991. V. 175. P. 123–128.
60. *Bertini R., Howard O.M., Dong H.F., Oppenheim J.J., Bizzarri C., Sergi R., Caselli G., Pagliei S., Romines B., Wilshire J.A., Megozzi M., Nakamura H., Yodoi J., Pekkarikari K., Gurunath R., Holmgren A., Herzenberg L.A., Grezzi P.* // *J. Exp. Med.* 1999. V. 189. P. 1783–1789.
61. *Powis G., Mustacich D., Coon A.* // *Free Radic. Biol. Med.* 2000. V. 29. P. 312–322.
62. *Watson W.H., Jones D.P.* // *FEBS Lett.* 2003. V. 543. P. 144–147.
63. *Hansen J.M., Go Y.M., Jones D.P.* // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2006. V. 46. P. 215–234.
64. *Holmgren A., Bjornstedt M.* // *Methods Enzymol.* 1995. V. 252. P. 199–208.
65. *Miranda-Vizuete A., Damdimopoulos A.E., Spyrou G.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 1999. V. 1447. P. 113–118.
66. *Sun Q.A., Wu Y., Zappacosta F., Jeang K.T., Lee B.J., Hatfield D.L., Gladyshev V.N.* // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 24522–24530.
67. *Sun Q.A., Kirnarsky I., Sherman S., Gladyshev V.N.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001. V. 98. P. 3673–3678.
68. *Kanzok S.M., Fechner A., Bauer H., Ulschmid J.K., Muller H.M., Botella-Munoz J., Schnewly S., Schirmer R., Becker K.* // *Science*. 2001. V. 291. P. 643–646.
69. *Zhong L., Arner E.S., Ljung J., Aslund F., Holmgren A.* // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. P. 8581–8591.
70. *Fritz-Wolf K., Urig S., Becker K.* // *J. Mol. Biol.* 2007. V. 370. P. 116–127.
71. *Zhong L., Holmgren V.* // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. P. 18121–18128.
72. *Bjornstedt M., Hamberg M., Kumar S., Xue J., Holmgren A.* // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 11761–11764.
73. *Matthews J.R., Wakasugi N., Virelizier J.L., Yodoi J., Hay R.T.* // *Nucleic Acid Res.* 1992. V. 20. P. 3821–3830.
74. *Okamoto T., Ogiwara H., Hayashi T., Mitsui A., Kawabe T., Yodoi J.* // *Int. Immunol.* 1992. V. 4. P. 811–819.
75. *Sen C.K.* // *Biochem. Pharmacology*. 1998. V. 55. P. 1747–1758.
76. *Chae H.Z., Kim H.J., Kang S.W., Rhee S.G.* // *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1999. V. 45. P. 101–112.
77. *Lillig C.H., Holmgren A.* // *Antioxid. Redox Signal.* 2007. V. 9. P. 25–47.
78. *Collet J.F., Messens J.* // *Antioxid. Redox Signal.* 2010. V. 13. P. 1205–1216.
79. *Burke-Gaffney A., Callister M.E., Nakamura H.* // *Trends Pharmacol. Sci.* 2005. V. 26. P. 398–404.
80. *Silva-Adaya D., Gonsebatt M.E., Guevara J.* // *Oxid. Med. Cell Longev.* 2014. V. 2014. P. 590808.
81. *Ying W.* // *Front. Biosci.* 2006. V. 11. P. 3129–3148.
82. *Alano C.C., Ying W., Swanson R.A.* // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 18895–18902.
83. *Alano C.C., Garnier P., Ying W., Higashi Y., Kauppinen T.M., Swanson R.A.* // *J. Neurosci.* 2010. V. 30. P. 2967–2978.
84. *Rutter J., Reick M., Wu L.C., McKnight S.L.* // *Science*. 2001. V. 293. P. 510–514.
85. *Ziegler M.* // *Eur. J. Biochem.* 2000. V. 267. P. 1550–1564.
86. *Pollak N., Dolle C., Ziegler M.* // *Biochem. J.* 2007. V. 402. P. 205–218.
87. *Guarneri R., Bonavita V.* // *Brain Res.* 1966. V. 2. P. 145–150.
88. *Parihar M.S., Kunz E.A., Brewer G.J.* // *J. Neurosci. Res.* 2008. V. 86. P. 2339–2352.
89. *Wilhelm F., Hirrlinger J.* // *J. Neurosci. Res.* 2011. V. 89. P. 1956–1964.
90. *Lehninger A., Nelson D.L., Cox M.M.* *Lehninger Principles of Biochemistry*. 5th ed. Freeman, 2008.
91. *Veech R.L., Eggleston L.V., Krebs H.A.* // *Biochem. J.* 1969. V. 115. P. 609–619.
92. *Stubbs M., Veech R.L., Krebs H.A.* // *Biochem. J.* 1972. V. 126. P. 59–65.
93. *Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W.* *Harper's Biochemistry*. Norwalk, Connecticut/San Mateo, California: Appleton & Lange, 1988.
94. *Stein L.R., Imai S.* // *Trends Endocrinol. Metab.* 2012. V. 23. P. 420–428.
95. *Magni G., Amici A., Emanuelli M., Orsomando G., Raffaelli N., Ruggieri S.* // *Cell Mol. Life Sci.* 2004. V. 61. P. 19–34.
96. *Berger F., Lau C., Dahlmann M., Ziegler M.* // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. P. 36334–36341.
97. *Raffaelli N., Sorci L., Amici A., Emanuelli M., Mazzola F., Magni G.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002. V. 297. P. 835–840.
98. *Schweiger M., Hennig K., Lerner F., Niere M., Hirsch-Kauffmann M., Specht T., Weise C., Oei S.L., Ziegler M.* // *FEBS Lett.* 2001. V. 492. P. 95–100.
99. *D'Amours D., Desnoyers S., D'Silva I., Poirier G.G.* // *Biochem. J.* 1999. V. 342. P. 249–268.
100. *McKenna M.C., Waagepetersen H. S., Schousboe A., Sonnewald U.* // *Biochem. Pharmacol.* 2006. V. 71. P. 399–407.
101. *Bruzzone S.L., Guida L., Zocchi E., Franco L., De Flora A.* // *FASEB J.* 2001. V. 15. P. 10–12.
102. *Verderio C., Bruzzone S., Zocchi E., Fedele E., Schenk U., De Flora A., Matteoli M.* // *J. Neurochem.* 2001. V. 78. P. 646–657.

103. Ying W., Garnier P., Swanson R.A. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. V. 308. P. 809–813.
104. Zhu K., Swanson R.A., Ying W. // *Neuroreport*. 2005. V. 16. P. 1209–1212.
105. Lu H., Burns D., Garnier P., Wei G., Zhu K., Ying W. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007. V. 362. P. 946–950.
106. Starai V.J., Celic I., Cole R.N., Boeke J.D., Escalante-Semerena J.C. // *Science*. 2002. V. 298. P. 2390–2392.
107. Rodgers J.T., Lerin C., Haas W., Gygi S.P., Spiegelman B.M., Puigserver P. // *Nature*. 2005. V. 434. P. 113–118.
108. Hallows W.C., Lee S., Denu J.M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2006. V. 103. P. 10230–10235.
109. Green D.R., Reed J.C. // *Science*. 1998. V. 281. P. 1309–1312.
110. Zoratti M., Szabo I. // *Biochim. Biophys. Acta*. 1995. V. 1241. P. 139–176.
111. Imai S., Guarente L. // *Trends Pharmacol. Sci.* 2010. V. 31. P. 212–220.
112. Zhang T., Kraus W.L. // *Biochim. Biophys. Acta*. 2010. V. 1804. P. 1666–1675.
113. Berger F., Ramirez-Hernandez M.H., Ziegler M. // *Trends Biochem. Sci.* 2004. V. 29. P. 111–118.
114. Kaeberlein M., McVey M., Guarente L. // *Genes. Dev.* 1999. V. 13. P. 2570–2580.
115. Blander G., Guarente L. // *Annu. Rev. Biochem.* 2004. V. 73. P. 417–435.
116. Tissenbaum H.A., Guarente L. // *Nature*. 2001. V. 410. P. 227–230.
117. Bordone L., Guarente L. // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2005. V. 6. P. 298–305.
118. Burnett C., Valentini S., Cabreiro F., Goss M., Somogyvari M., Piper M.D., Hoddinott M., Sutphin G.L., Leko V., McElwee J.J., Vazquez-Manrique R.P., Orfila A.M., Ackerman D., Au C., Vinti G., Riesen M., Howard K., Neri C., Bedalov A., Kaeberlein M., Soti C., Partridge L., Gems D. // *Nature*. 2011. V. 477. P. 482–485.
119. Smogorzewska A., de Lange T. // *Annu. Rev. Biochem.* 2004. V. 73. P. 177–208.
120. Lehtiö L., Chi N.W., Krauss S. // *FEBS J.* 2013. V. 280. P. 3576–3593.
121. Grube K., Burkley A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1992. V. 89. P. 11759–11763.
122. Burkley A., Diefenbach J., Brabeck C., Beneke S. // *Pharmacol. Res.* 2005. V. 52. P. 93–99.
123. Piskunova T.S., Zabezhinski M.A., Popovich I.G., Semenchenko A.V., Kovalenko I.G., Poroshina T.E., Tyndyk M.L., Anisimov V.N. // *Vopr. Onkol.* 2010. V. 56. P. 321–326.
124. Eliasson M.J., Sampei K., Mandir A.S., Hurn P.D., Traystman R.J., Bao J., Pieper A., Wang Z.Q., Dawson T.M., Snyder S.H., Dawson V.L. // *Nat. Med.* 1997. V. 3. P. 1089–1095.
125. Narasimhan P., Fujimura M., Noshita N., Chan P.H. // *Brain. Res. Mol. Brain. Res.* 2003. V. 113. P. 28–36.
126. Tokime T., Nozaki K., Sugino T., Kikuchi H., Hashimoto N., Ueda K. // *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.* 1998. V. 18. P. 991–997.
127. Endres M., Wang Z.Q., Namura S., Waeber C., Moskowitz M.A. // *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.* 1997. V. 17. P. 1143–1151.
128. LaPlaca M.C., Zhang J., Raghupathi R., Li J.H., Smith F., Bareyre F.M., Snyder S.H., Graham D.I., McIntosh T.K. // *J. Neurotrauma*. 2001. V. 18. P. 369–376.
129. Pieper A.A., Brat D.J., Krug D.K., Watkins C.C., Gupta A., Blackshaw S., Verma A., Wang Z.Q., Snyder S.H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1999. V. 96. P. 3059–3064.
130. Suh S.W., Aoyama K., Chen Y., Garnier P., Matsumori Y., Gum E., Liu J., Swanson R.A. // *J. Neurosci.* 2003. V. 23. P. 10681–10690.
131. Ying W. // *Antioxid. Redox Signal.* 2008. V. 10. P. 179–206.
132. Ying W. // *Scientifica (Cairo)*. 2013. V. 2013. P. 691251.
133. Davidovic L., Vodenicharov M., Affar E.B., Poirier G.G. // *Exp. Cell. Res.* 2001. V. 268. P. 7–13.
134. Rossi L., Denegri M., Torti M., Poirier G.G., Scovassi A.I. // *Biochimie*. 2002. V. 84. P. 1229–1235.
135. Di Meglio S., Denegri M., Vallefucio S., Tramontano F., Scovassi A.I., Quesada P. // *Mol. Cell. Biochem.* 2003. V. 248. P. 85–91.
136. Ohashi S., Kanai M., Hanai S., Uchiumi F., Maruta H., Tanuma S., Miwa M. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. V. 307. P. 915–921.
137. Tulin A., Naumova N.M., Menon A.K., Spradling A.C. // *Genetics*. 2006. V. 172. P. 363–371.
138. Uchiumi F., Ikeda D., Tanuma S. // *Biochim. Biophys. Acta*. 2004. V. 1676. P. 1–11.
139. Feng X., Koh D.W. // *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 2013. V. 304. P. 227–281.
140. Guse A.H. // *FEBS J.* 2005. V. 272. P. 4590–4597.
141. Lee H.C. // *Curr. Mol. Med.* 2004. V. 4. P. 227–237.
142. Guse A.H., da Silva C.P., Berg I., Skapenko A.L., Weber K., Heyer P., Hohenegger M., Ashamu G.A., Schulze-Koops H., Potter B.V., Mayr G.W. // *Nature*. 1999. V. 398. P. 70–73.
143. Kolisek M., Beck A., Fleig A., Penner R. // *Mol. Cell*. 2005. V. 18. P. 61–69.
144. Kuhn F.J., Heiner I., Luckhoff A. // *Pflugers. Arch.* 2005. V. 451. P. 212–219.
145. Gasser A., Glassmeier G., Fliegert R., Langhorst M.F., Meinke S., Hein D., Kruger S., Weber K., Heiner I., Oppenheimer N., Schwarz J.R., Guse A.H. // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. P. 2489–2496.
146. Grubisha O., Raftoy L.A., Takanishi C.L., Xu X., Tong L., Perraud A.L., Scharenberg A.M., Denu J.M. // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. P. 14057–14065.
147. Corda D., Di Girolamo M. // *EMBO J.* 2003. V. 22. P. 1953–1958.
148. Di Girolamo M., Dani N., Stilla A., Corda D. // *FEBS J.* 2005. V. 272. P. 4565–4575.
149. Aswad F., Kawamura H., Dennert G. // *J. Immunol.* 2005. V. 175. P. 3075–3083.
150. Brailoiu E., Churamani D., Cai X., Schrlau M.G., Brailoiu G.C., Gao X., Hooper R., Boulware M.J., Dun N.J., Marchant J.S., Patel S. // *J. Cell Biol.* 2009. V. 186. P. 201–209.

151. *Brailoiu E., Hooper R., Cai X., Brailoiu G.C., Keebler M.V., Dun N.J., Marchant J.S., Patel S.* // J. Biol. Chem. 2010. V. 285. P. 2897–2901.
152. *Morgan A.J., Platt F.M., Lloyd-Evans E., Galione A.* // Biochem. J. 2011. V. 439. P. 349–374.
153. *Kaplin A.I., Snyder S.H., Linden D.J.* // J. Neurosci. 1996. V. 16. P. 2002–2011.
154. *Patterson R.L., van Rossum D.B., Kaplin A.I., Barrow R.K., Snyder S.H.* // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2005. V. 102. P. 1357–1359.
155. *Zima A.V., Copello J.A., Blatter L.A.* // FEBS Lett. 2003. V. 547. P. 32–36.
156. *Zima A.V., Copello J.A., Blatter L.A.* // J. Physiol. 2004. V. 555. P. 727–741.
157. *Requardt R.P., Hirrlinger P.G., Wilhelm F., Winkler U., Besser S., Hirrlinger J.* // J. Neurochem. 2012. V. 120. P. 1014–1025.
158. *Zhang Q., Piston D.W., Goodman R.H.* // Science. 2002. V. 295. P. 1895–1897.
159. *Reiss P.D., Zuurendonk P.F., Veech R.L.* // Anal. Biochem. 1984. V. 140. P. 162–171.
160. *Lerner F., Niere M., Ludwig A., Ziegler M.* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2001. V. 288. P. 69–74.
161. *Grose J.H., Joss L., Velick S.F., Roth J.R.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. V. 103. P. 7601–7606.
162. *Shianna K.V., Marchuk D.A., Strand M.K.* // Mitochondrion. 2006. V. 6. P. 94–101.
163. *Jackson J.B.* // FEBS Lett. 2003. V. 555. P. 176–177.
164. *Rydstrom J.* // Biochim. Biophys. Acta. 2006. V. 1757. P. 721–726.
165. *Kirkman H.N., Gaetani G.F.* // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1984. V. 81. P. 4343–4347.
166. *Bedard K., Krause K.H.* // Physiol. Rev. 2007. V. 87. P. 245–313.
167. *Babior B.M., Kipnes R.S., Curnutte J.T.* // J. Clin. Invest. 1973. V. 52. P. 741–744.
168. *Nauseef W.M.* // Immunol. Rev. 2007. V. 219. P. 88–102.
169. *Cross A.R., Segal A.W.* // Biochim. Biophys. Acta. 2004. V. 1657. P. 1–22.
170. *Winterbourn C.C., Hampton M.B., Livesey J.H., Kettle A.J.* // J. Biol. Chem. 2006. V. 281. P. 39860–39869.
171. *Galione A.* // Biochem. Soc. Trans. 2006. V. 34. P. 922–926.
172. *Fliegert R., Gasser A., Guse A.H.* // Biochem. Soc. Trans. 2007. V. 35. P. 109–114.
173. *Beck A., Kolisek M., Bagley L.A., Fleig A., Penner R.* // FASEB J. 2006. V. 20. P. 962–964.
174. *Müller F.* Chemistry and Biochemistry of Flavoenzymes. CRC Press, Boca Raton, 1991.
175. *Tomiki T., Saitou N.* // J. Mol. Evol. 2004. V. 59. P. 158–176.
176. *van Pee K.H., Patallo E.P.* // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2006. V. 70. P. 631–641.
177. *Jorns M.S., Wang B., Jordan S.P.* // Biochemistry. 1987. V. 26. P. 6810–6816.
178. *Lipton S.A., Bossy-Wetzel E.* // Cell. 2002. V. 111. P. 147–150.
179. *Lienhart W.D., Gudipati V., Macheroux P.* // Arch. Biochem. Biophys. 2013. V. 535. P. 150–162.
180. *Macheroux P., Kappes B., Ealick S.E.* // FEBS J. 2011. V. 278. P. 2625–2634.
181. *Massey V.* // J. Biol. Chem. 1994. V. 269. P. 22459–22462.
182. *Fitzpatrick P.F.* // Arch. Biochem. Biophys. 2010. V. 493. P. 13–25.
183. *Krebs H.A.* // Adv. Enzyme Regul. 1967. V. 5. P. 409–434.
184. *Krebs H.A., Gascoyne T.* // Biochem. J. 1968. V. 108. P. 513–520.
185. *Reich J.G., Selkov E.E.* Energy Metabolism of the Cell: a Theoretical Treatise. Academic Press, New York, 1981.
186. *Nover L., Lynen F., Mothes K.* Cell Compartmentation and Metabolic Channeling, Fischer Verlag, Jena, 1980.
187. *Papa S., Tager J.M., Slater S.C.* The Energy Level and Metabolic Control in Mitochondria, Adriatica Editrice, Bari, 1969.
188. *Sies H.*, Metabolic Compartmentation. Academic Press, London, 1982.
189. *Калинина Е.В., Червон Н.Н., Саприн А.Н.* // Усп. Биол. химии. 2008. Т. 48. С. 319–358.
190. *Dooley C.T., Dore T.M., Hanson G.T., Jackson W.C., Remington S.J., Tsien R.Y.* // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 22284–22293.
191. *Hanson G.T., Aggeler R., Oglesbee D., Cannon M., Capaldi R.A., Tsien R.Y., Remington S.J.* // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 13044–13053.
192. *Hung Y.P., Albeck J.G., Tantama M., Yellen G.* // Cell Metab. 2011. V. 14. P. 545–554.
193. *Zhao Y., Jin J., Hu Q., Zhou H.M., Yi J., Yu Z., Xu L., Wang X., Yang Y., Loscalzo J.* // Cell Metab. 2011. V. 14. P. 555–566.
194. *Bilan D.S., Matlashov M.E., Gorokhovatsky A.Y., Schultz C., Enikolopov G., Belousov V.V.* // Biochim. Biophys. Acta. 2014. V. 1840. P. 951–957.
195. *Loach P.A., Fasman G.D.* Handbook of Biochemistry and Molecular Biology, 3rd ed., CRC Press, 1976.
196. *Lowe H.J., Clark W.M.* // J. Biol. Chem. 1956. V. 221. P. 983–992.
197. *Hustad S., McKinley M.C., McNulty H., Schneede J., Strain J.J., Scott J.M., Ueland P.M.* // Clin. Chem. 2002. V. 48. P. 1571–1577.
198. *Millis K.K., Weaver K.H., Rabenstein D.L.* // J. Org. Chem. 1993. V. 58. P. 4144–4146.
199. *Watson W.H., Pohl J., Montfort W.R., Stuchlik O., Reed M.S., Powis G., Jones D.P.* // J. Biol. Chem. 2003. V. 278. P. 33408–33415.
200. *Rodkey F.L., Donovan J.A.* // J. Biol. Chem. 1959. V. 234. P. 677–680.

Main Cellular Redox Couples

D. S. Bilan^{*, **, #}, A. G. Shokhina^{*}, S. A. Lukyanov^{*, **}, V. V. Belousov^{*, **}

[#]Phone: +7 (499) 724-84-66; e-mail: d.s.bilan@gmail.com

^{*}Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia

^{**}Nizhny Novgorod State Medical Academy, Ministry of Healthcare of Russia,
pl. Minina i Pozharskogo 10/1, Nizhny Novgorod, 603005 Russia

Most of the living cells maintain the continuous flow of electrons, which provides them by energy. Many of the compounds are presented in a cell at the same time in the oxidized and reduced states, forming the active redox couples. Some of the redox couples, such as NAD^+/NADH , $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$, oxidized/reduced glutathione (GSSG/GSH), are universal, as they participate in adjusting of many cellular reactions. Ratios of the oxidized and reduced forms of these compounds are important cellular redox parameters. Modern research approaches allow setting the new functions of the main redox couples in the complex organization of cellular processes. The following information is about the main cellular redox couples and their participation in various biological processes.

Keywords: redox couples, GSSG/2GSH, $\text{NAD(P)}^+/\text{NAD(P)H}$, thioredoxin, flavins